

Identification de facteurs de virulence spécifique d'hôte de souches entérohémorragiques d'*Escherichia coli* (EHEC) appartenant au séro groupe O26, par hybridation soustractive d'ADN.

BARDIAU M., MAINIL J.

Faculté de Médecine Vétérinaire – Ulg – Sart-tilman, B43a – 4000 Liège

Les souches entérohémorragiques d'*Escherichia coli* (EHEC) sont caractérisées par des lésions d'attachement et d'effacement des cellules épithéliales de l'intestin, par l'expression de vérotoxines et par l'apparition d'entérocrites hémorragiques chez les organismes infectés. Elles représentent actuellement un problème important en santé publique. En effet, les souches EHEC contaminent l'homme via les denrées alimentaires animales et végétales et provoquent des intoxications avec diarrhées. Celles-ci sont souvent accompagnées de colites hémorragiques avec, dans 10 % des cas, apparition de séquelles rénales pouvant conduire à la mort. Dans le domaine vétérinaire, quelques sérogroupes des souches EHEC (O26, O111, O118 par exemple) sont directement associés à des troubles digestifs chez les veaux âgés de deux semaines à deux mois. Il en résulte des pertes économiques dues au retard de croissance et à la faiblesse des jeunes veaux.

La pathogénie se déroule en trois étapes : (1) la colonisation de l'intestin via des adhésines particulières, (2) la production d'un signal par la bactérie provoquant le réarrangement du cytosquelette dans les entérocytes et (3) l'adhésion intime de la bactérie à la cellule eucaryote via des protéines spécifiques, les intimines. Les facteurs impliqués dans la spécificité d'hôte ont été identifiées pour les souches entéropathogènes d'*Escherichia coli* (EPEC) mais pas pour les souches entérohémorragiques (EHEC). Ces facteurs pourraient être basés sur les protéines intervenant dans l'étape de la colonisation de l'intestin (les adhésines par exemple), celles-ci n'étant actuellement pas définies pour les souches EHEC humaines et animales.

Notre but est de déterminer les facteurs impliqués dans l'attachement initial et dans la spécificité d'hôte (homme ou bovin) des souches EHEC appartenant au séro groupe O26 et ainsi permettre le développement d'outils supplémentaires de diagnostique, de typage et d'épidémiologie. Ce qui facilitera l'analyse des risques encourus lors de l'isolement de souches EHEC dans les denrées alimentaires.

Le projet est basé sur trois points différents. Premièrement, la technique de l'hybridation suppressive soustractive (SSH) va permettre la comparaison génomique d'une souche EHEC O26 pathogène bovine avec, d'une part, une souche EHEC O26 non-pathogène bovine et avec, d'autre part, une souche EHEC O26 pathogène humaine. Les fragments spécifiques ainsi trouvés seront clonés et séquencés. Après comparaison des séquences obtenues à celles disponibles dans les bases de données, les candidats présentant des similitudes de séquence avec des adhésines potentielles et avérées seront retenus. L'inactivation de ces candidats par mutagenèse permettra ensuite d'évaluer leur rôle dans la pathogénie par comparaison d'une souche mutée et de la souche parentale dans des tests d'adhésion sur cellule en culture. Deuxièmement, la technique de capture sélective de séquences transcrites (SCOT) va permettre de comparer les transcriptomes de souches EHEC bovine O26 après, d'une part, croissance *in vitro* en milieu liquide et, d'autre part, au contact de cellules eucaryotes en culture. Finalement, les résultats ainsi obtenus seront appliqués au diagnostique par la mise au point de tests d'analyse rapides et fiables.

Bibliographie

- Mainil J.G., Daube G. (2005) Verotoxigenic *Escherichia coli* from animals, humans and foods : who's who ? *J. Appl. Microbiol.* **98**, 1332-1344.
- Szalo I.M., Taminiau B., Goffaux F., Pirson V., McCappin J., Ball H.J., Mainil J.G. (2004) 2F3 Monoclonal antibody recognizes the O26 O-Antigen Moiety of the lipopolysaccharide of enterohemorrhagic *Escherichia coli* strain 4276. *Clin.Diagn.Lab.Immunol* **11**, 532-537.